

①⑨ RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

①⑪ N° de publication :
(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

2 668 365

②① N° d'enregistrement national :

90 13349

⑤① Int Cl⁵ : A 61 K 7/48; C 07 K 5/04, 7/04

①②

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②② Date de dépôt : 25.10.90.

③⑦ Priorité :

④③ Date de la mise à disposition du public de la
demande : 30.04.92 Bulletin 92/18.

⑤⑥ Liste des documents cités dans le rapport de
recherche : *Se reporter à la fin du présent fascicule.*

⑥⑦ Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

⑦① Demandeur(s) : *SEDERMA (SA) — FR.*

⑦② Inventeur(s) : *Lintner Karl.*

⑦③ Titulaire(s) :

⑦④ Mandataire :

⑤④ Utilisation en cosmétique des N-acétylpeptides dotés d'une activité biologique.

⑤⑦ Ce brevet décrit l'obtention et l'utilisation en cosmétique, des produits issus d'une réaction entre un oligopeptide biologiquement actif et un acide gras pour faciliter le passage transcutané et assurer la pénétration du peptide vers son site d'action.

FR 2 668 365 - A1



Le domaine des protéines et des peptides dotés d'une activité biologique spécifique est caractérisé par le très grand nombre de protéines (enzymes, protéines de transport et de structure) et de peptides de taille variable (facteurs de croissance, hormones, neurotransmetteurs). Cette grande diversité résulte de la possibilité pratiquement illimitée de combiner les acides aminés en chaînes plus ou moins longues de séquence variable. Les protéines et les peptides ont en commun leur structure chimique : enchaînement d'acides aminés ; leur nature physico-chimique : plutôt hydrosolubles que lipophiles ; leur mode de dégradation "in vivo" : action ciblée relativement spécifique pour chaque séquence (stimulateur, inhibiteur, effecteur de processus métaboliques).

Alors que ce dernier point rend les protéines et les peptides (polypeptides et oligopeptides) très intéressants dans les domaines pharmaceutique et cosmétique, certains paramètres décrits plus haut limitent leur emploi dans ces domaines. En ce qui concerne l'application topique, le degré d'hydrosolubilité, l'absence de lipophilie marquée ainsi que la taille moyenne des peptides, couplés à la présence plus ou moins importante de charges électriques sur les molécules, sont responsables du fait que les peptides, même de petite taille, ne pénètrent que difficilement à travers les couches superficielles de la peau. Un grand nombre de peptides biologiquement actifs, appelés biopeptides dans ce qui suit, pourraient trouver leur application dans les produits cosmétiques destinés aux soins préventifs ou réparateurs de la peau : les inhibiteurs de la protéolyse (élastase, collagénase), les stimulateurs de la synthèse du collagène, de l'élastine, de la réticuline ou de la laminine, les peptides anti-inflammatoires, les peptides à action cicatrisante, les peptides chemotactiques, vasodilatateurs et autres.

Quelles sont les limites d'utilisation de ces peptides dans les préparations cosmétiques ?

Du fait, de la difficulté qu'ont ces substances à pénétrer le stratum corneum, on pourrait penser qu'une augmentation de la concentration du peptide permettrait de surmonter la lenteur de la diffusion transcutanée. Mais le prix très élevé des peptides de synthèse et les risques de sensibilisation ou d'allergie interdisent cette voie.

Ces peptides, de séquence connue et décrits dans 2668365érature, sont actifs "in vivo" et "in vitro" à des concentrations très faibles, de l'ordre de milli-, micro- et nanomoles par litre. Pour amener les biopeptides de la surface de la peau vers les

5 cellules cibles de l'épiderme, en utilisant des concentrations de cet ordre de grandeur, les possibilités sont limitées. L'objet du présent brevet est l'utilisation des acides gras, composants naturels de la peau (acide oléique, palmitique, linoléique et autres) comme vecteurs de peptides. Nous avons

10 découvert que la plupart des biopeptides d'intérêt cosmétique conservent leur activité biologique naturelle, même si ce peptide est acylé du côté N-terminal par un acide gras du type décrit. Ce lipopeptide acquiert un caractère lipophile beaucoup plus marqué, devient émulsifiable avec les composants

15 lipophiles d'une préparation cosmétique et peut traverser le stratum corneum, soit par voie intercellulaire soit par voie intracellulaire.

Ces lipopeptides ont la formule générale suivante :

$R_1-NH-X-COOR_2$, où R_1 est une chaîne aliphatique de 2 à 22

20 atomes, saturée ou insaturée, ou portant un ou plusieurs groupes hydroxyl ; ou X est un oligopeptide de 2 à 20 acides aminés, de séquence et d'activité biologique définie ; ou $R_2 = H$, ester méthylrique ou éthyrique, amide, méthylamide ou diméthylamide

Quelques exemples non limitatifs vont illustrer les possibilités

25 d'utilisation de ces lipo-biopeptides.

Carnosine : la carnosine est un dipeptide de séquence β -Ala-His, qui se trouve présent dans divers tissus animaux. Au niveau physiologique et pharmacologique, son activité a été décrite comme étant antioxydante [BABIZHAYEN M.A. (1989) B.B.A. 1004,

30 363-371], cicatrisante [L. SOO YOUNG (1983) Hanguk. Saenghwa Hakko Chi, 16 (2), 181 - 187] .et anti-inflammatoire.

L'utilisation de ce peptide par voie topique n'a pas été envisagée du fait de son faible pouvoir de pénétration cutanée. Le couplage de la carnosine avec un acide gras choisi dans la

35 série des acides gras saturés ou insaturés de longueur C12 à C18 (palmitique, stéarique, oléique, linoléique etc ...) par voie de synthèse (méthode des anhydrides mixtes, de carbodiimide et d'autres bien connues par l'homme de l'art de la synthèse peptidique) donne un produit huileux mais pur, après

40 purification par chromatographie. Ce produit conserve l'activité

antioxydante de la carnosine. Il peut être facilement incorporé dans la phase grasse d'une formulation cosmétique ou dans des préparations de liposomes.

5 Les études de pénétration cutanée par autohistoradiographie ont montré que la lipo-carnosine traverse le stratum corneum alors que la carnosine ne le fait que de façon très limitée dans un même laps de temps.

Gly-His-Lys : ce peptide est un facteur de croissance cellulaire spécifique des cellules du foie, surtout quand il se présente
10 sous forme de sel de cuivre [PICKART L. et al (1973) Biochem. Res. Commun. 54, 562-566]. Il a également été décrit comme stimulateur de la synthèse du collagène sur des fibroblastes en culture [MAQUART F.X. et al (1988 FEBS letters, 238 (2), 181-187]. Son caractère hydrosoluble et hydrophile ainsi que
15 les charges électriques (sur le groupe amino et carboxyl ainsi que sur le noyau imidazole et sur la Lysine) rendent son passage transcutané difficile. La réaction avec un acide gras, comme décrit plus haut, permet de garder l'activité stimulatrice de la
20 synthèse de collagène. Le même type d'étude autohistoradiographique sur le peptide marqué à l'iode sur le noyau imidazole de l'histidine révèle une meilleure pénétration du lipobiopeptide par rapport au peptide seul.

Fragments de laminine et peptides chemotactiques : certaines séquences oligopeptidiques ont la capacité de reproduire des
25 fonctions spécifiques des protéines dont elles sont issues : le pentapeptide Tyr-Arg-Gly-Asp-Ser de la laminine, glycoprotéine de poids moléculaire 800.000, est la séquence la plus courte qui favorise l'attachement des cellules entre elles. Cette action simule la fonction de la protéine entière. Plus la séquence
30 peptidique est longue, moins le peptide passera facilement à travers la peau. La modification par la N-acylation permet, comme dans les autres cas, de faire pénétrer le peptide dans le stratum granulosum de l'épiderme.

Un comportement et une fonction similaire peuvent être décrits
35 pour la séquence Arg-Gly-Asp de la fibronectine, pour la séquence Gly-Pro-Arg-Pro qui inhibe la fibrinolyse, pour la séquence Val-Gly-Pro-Val-Gly, fragment de l'élastine, pour les peptides vasodilatateurs qui peuvent améliorer la micro-circulation dans la peau ou les vasoconstricteurs qui permettent
40 d'atténuer les tâches de rougeurs diffuses.

Concernant les peptides d'activité biologique qui peuvent être rendus lipophiles et ainsi capables d'un passage transcutané, il est impossible d'en dresser une liste exhaustive.

- On peut toutefois citer, sans être limitatif, les peptides
- 5 stimulateurs de la croissance cellulaire, les peptides stimulateurs de la synthèse protéique, de la lipolyse, de la mélanogénèse, les inhibiteurs peptidiques de l'hydrolyse enzymatique en général, et de la lipogénèse, les peptides responsables d'une action spécifique sur le cuir chevelu.
- 10 Les lipoaminoacides sont une classe à part, dans la mesure où un acide aminé ne constitue pas encore un peptide et n'a pas en soi une activité spécifique.

- Les produits faisant l'objet de l'invention peuvent être formulés dans toutes les présentations habituelles de la
- 15 cosmétologie telles que crèmes, laits ou huiles ainsi que gels, lotions et toniques. Il peut également s'agir de préparations liposomales, de micro- ou nanocapsules, de micro- ou nanoparticules.

- La dose d'utilisation de ces composés va dépendre du peptide et
- 20 de son activité spécifique. Elle pourra s'échelonner de 10^{-6} à 10^{-2} molaire.

REVENDICATIONS

1. Préparations cosmétiques caractérisées en ce qu'elles contiennent un ou plusieurs lipopeptides de formule générale :
$$R_1-NH-X-COOR_2$$

5 ou R^1 est une chaîne aliphatique de 2 à 22 atomes, saturée ou insaturée, ou portant un ou plusieurs groupes hydroxyles ou X est un oligopeptide de 2 à 20 acides aminés, de séquence et d'activité biologique définie ; ou $R_2 = H$, ester méthylique ou éthylique, amide, méthylamide ou

10 diméthylamides.
2. Préparations cosmétiques selon la revendication 1 caractérisées en ce que la chaîne aliphatique est saturée.
3. Préparations cosmétiques selon les revendications 1 et 2 caractérisées en ce que la chaîne aliphatique est hydroxylée
- 15 avec 1 à 3 groupements hydroxyles.
4. Préparations cosmétiques selon les revendications 1 à 3 caractérisées en ce que la chaîne aliphatique est insaturée avec 1 à 6 doubles liaisons.
5. Préparations cosmétiques selon les revendications 1 à 4,
- 20 caractérisées en ce que le peptide a la séquence β -Alanyl-Histidine.
6. Préparations cosmétiques selon les revendications 1 à 4, caractérisées en ce que le peptide a la séquence Glycyl-Histidyl-Lysine.
- 25 7. Préparations cosmétiques selon l'une quelconque des revendications 1 à 4 caractérisées en ce que le peptide a la séquence Arginyl-Glycyl-Aspartyl.
8. Préparations cosmétiques selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisées en ce que le
- 30 peptide a la séquence Glycyl-Prolyl-Arginyl-Proline.

9. Préparations cosmétiques selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisées en ce que le peptide a la séquence Tyrosyl-Arginyl-Glycyl-Aspartyl-Sérine.
- 5 10. Préparations cosmétiques selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisées en ce que le peptide a la séquence Valyl-Prolyl-Glycyl-Valyl-Glycine.
11. Préparations cosmétiques selon l'une quelconque des revendications de 1 à 10, caractérisées en ce que R_1 est l'acide palmitique.
- 10 12. Préparations cosmétiques selon l'une quelconque des revendications de 1 à 10, caractérisées en ce que R_1 est l'acide oléique.
13. Préparations cosmétiques selon l'une quelconque des revendications de 1 à 10, caractérisées en ce que R_1 est l'acide linoléique.
- 15 14. Préparations cosmétiques selon l'une quelconque des revendications de 1 à 10, caractérisées en ce que R_1 est l'acide aleurétique.
- 20 15. Préparations cosmétiques selon l'une quelconque des revendications 1 à 14 caractérisées en ce qu'elles peuvent être des crèmes, laits, huiles, gels, lotions et toniques.
16. Préparations cosmétiques selon l'une quelconque des revendications de 1 à 14 caractérisées en ce qu'elles peuvent être encapsulées dans des vésicules du type liposomes, micro- ou nanocapsules.
- 25 17. Préparations cosmétiques selon l'une quelconque des revendications de 1 à 16, caractérisées en ce que la dose d'utilisation est comprise entre 10^{-6} et 10^{-2} molaire.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Revendications concernées de la demande examinée
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	
X	WO-A-9 006 102 (PEPTIDE TECHNOLOGY LTD) * Revendications; page 2, ligne 21 - page 3, ligne 28 *	1,5,15, 17
X	WO-A-8 912 441 (PROCYTE CORP.) * Revendications; page 5, lignes 19-29; page 7, ligne 6 - page 11, ligne 5; exemple VII *	1,2,6, 11,15, 17
A	FR-A-2 609 393 (LABORATOIRES SEROBIOLOGIQUES) * Revendications *	1,5,16
		DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int. Cl.5)
		A 61 K
Date d'achèvement de la recherche 20-08-1991		Examineur WILLEKENS G.E.J.
<p>CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES</p> <p>X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou arrière-plan technologique général O : divulgation non-écrite P : document intercalaire</p> <p>T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant</p>		

EPO FORM 1503 03.82 (P0413)

THIS PAGE BLANK (USPTO)